

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
総括研究報告書（令和5年度）

NMRに基づく化学物質のデジタル化とその利活用に関する研究

研究代表者 西崎雄三 国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 主任研究官
現所属：東洋大学 食環境科学部食環境科学科 准教授

研究要旨 NMRスペクトル上で2種のジアステレオマー混合物として観測される農薬ジフェノコナゾール (DFZ) について、NMR用反復計算ソフトウェアを用いて、化学シフトおよびスピン-スピン結合定数から成る¹Hスピン情報を明らかにした。得られた (2*RS*, 4*RS*)-DFZと (2*RS*, 4*SR*)-DFZの¹Hスピン情報を基にDFZのNMRスペクトルを作成したところ、検討したすべての¹H共鳴周波数 (80~800 MHz) で実測スペクトルと一致した。また、DFZの¹Hスピン情報を基に線形フィッティングによるDFZの定量分析を実施したところ、NMR装置の磁場の大きさに依存することなく、検討したすべての¹H共鳴周波数 (80~800 MHz) でDFZ含量とジアステレオマー比を誤差2%以内で分離定量することができた。以上のことから、NMR用反復計算ソフトウェアを用いて得られた¹Hスピン情報は、定性・定量分析の際のデジタルな標準品として機能することが示された。

研究協力者

石附京子 国立医薬品食品衛生研究所
食品添加物部
中島 馨 国立医薬品食品衛生研究所
食品添加物部

ピン情報という固有の情報に基づいて、様々な磁場における参照 NMR スペクトルを作成することができる。米国薬局方 (USP) では、NMR 反復計算ソフトウェアから取得した ¹H スピン情報を利用し、抗ウイルス薬レムデシビルの参照 NMR スペクトルを作成し、確認試験に活用している。²⁾

A. 研究目的

¹H-NMR は量子力学系の特性に従うため、化学物質の化学シフト及びスピン-スピン結合定数を含む ¹H スピン情報が明らかな場合、計算から ¹H-NMR スペクトルを作成することができる。逆に、NMR 反復計算ソフトウェアを利用して、¹H-NMR スペクトルから ¹H スピン情報を正確に決定する手法も存在し、この手法は ¹H iterative functionalized / Full Spin Analysis (HifSA / HiFSA) と呼ばれている。¹⁾

¹H スピン情報を NMR 解析ソフトウェアに入力すると、当該物質の参照 NMR スペクトルが作成できる。さらに、¹H スピン情報は NMR 装置の磁場の大きさに依存しないことから、¹H ス

¹H スピン情報は、多成分系の定量分析にも活用が期待されている。具体的には、事前に明らかにした複数成分それぞれの ¹H スピン情報を NMR 反復計算ソフトウェアに入力し、線形フィッティングを通じて、それぞれの成分を分離して定量することが可能である。NMR 反復計算ソフトウェアを用いた定量分析は、量子力学系の特性に従うため、Quantum mechanics qNMR (QM-qNMR) や QM-total-line-shape fitting と呼ばれている。QM-qNMR は、従来の積分 qNMR (INT-qNMR) では扱うことができなかった、スペクトル上の重なり合ったプロトンの定量分析に有用である。また、QM-qNMR は 60MHz、

400MHz, 800MHz などの磁場の大きさに依存しない一斉定量分析の構築が理論上可能である。

食品の品質や安全性に対する国民の関心は高く、多くの化学物質が監視の対象となっている。クロマトグラフィーによる定量分析において、これら化学物質の標準品は分析データの信頼性を保証するものであり、適切な管理・供給体制の構築が求められる。しかし、監視の対象となる化学物質は増加の一途である。このことは、関連機関が標準品の『開発・管理・供給』に追われる状態がこの先も続くことを示す。一方、HifSA を通じて化学物質の ^1H スピン情報を明らかにできれば、この情報に基づいて当該物質の定性・定量分析が可能となる。すなわち、従来、物質で管理していた標準品を ^1H スピン情報というデジタルな情報に置き換えることで、試験者は NMR 装置と周知された対象物質のデジタル情報のみで、定性・定量試験を実施できるようになる。

研究代表者らは、HifSA / ^1H スピン情報の概念を公的な試験法に実装することを検討している。そのためには、様々な化学物質を対象にして、実例データを蓄積していくことが重要である。そこで本研究は、NMR スペクトル上で2種の立体異性体混合物として観測される、農薬ジフェノコナゾール (DFZ) をモデル化合物として HifSA の検討を行う (図 1)。まず、NMR 反復計算ソフトを用いて、(2*RS*, 4*RS*)-DFZ と (2*RS*, 4*SR*)-DFZ の ^1H スピン情報を明らかにする。また、 ^1H スピン情報は、磁場の大きさに依存しない物質固有の情報であることから、80 MHz, 400 MHz, 600 MHz, 800MHz の NMR 装置から取得した実測の NMR スペクトルを、磁場の大きさに応じて作成した参照 NMR スペクトルと比較し、 ^1H フルスピン情報の保存性を明らかにする。さらに、 ^1H スピン情報を基準にして、(2*RS*, 4*RS*)-DFZ と (2*RS*, 4*SR*)-DFZ の分離定量を行い、異性体比を算出する。得られた結果を、別にキラルクロマトグラフィーで算出した異性体比と比較し、 ^1H スピン情報を基準にした定量法の精度を評価する。

B. 研究方法

B-1) 試薬及び試料

ジメチルスルホン (DMSO₂; Cat. No. 048-33271, 99.9% mass fraction), 1,4-BTMSB-*d*₄ (Cat. No. 024-17031, 100.0% mass fraction) 及び重アセトン (Cat. No. 012-26681, 99.9% D) は富士フィルム和光純薬から購入した。

食品添加物として流通している DFZ (FA255~257) は日本食品添加物協会を通じて入手した。DFZ 標準品は林純薬工業 (Cat. No. 99053174; RM001) と富士フィルム和光純薬 (Cat. No. 042-25241; RM002) から購入した。

B-2) 試料調製

温度 20~25°C, 相対湿度 40~80% の環境下で試料調製を行った。冷蔵庫から取り出した試薬及び DFZ 試料は、シリカゲルデシケーター内で室温に戻した後、蓋を緩めて天秤台の上で 30 分静置させた。ウルトラマイクロ天秤 (XP2U; Mettler Toledo) を用いて、試薬及び DFZ 試料を精密に量りとり、重アセトンを加えて溶解し、NMR 用試料液とした。

B-2) NMR 装置

高磁場 NMR は、日本電子製の 4 台を使用した：室温プローブ付き JNM-ECZL600G (600.17 MHz for ^1H), 室温プローブ付き JNM-ECZL400S (399.78 MHz), コールドプローブ付き JNM-ECZ600R/S1 (600.67 MHz) 及びコールドプローブ付き JNM-ECZ800R (800.14 MHz)。低磁場 NMR は、Bruker 社製の Bruker Fourier 80 (80.15 MHz) を用いた。全ての NMR 装置は測定温度を 25°C に制御して測定を行った。qNMR 測定条件の取り込み時間 (AQ) と遅延時間 (*D*₁) は、それぞれ 4.5 秒と 60 秒に統一した。

B-3) NMR データ処理

NMR 測定して得られた FID は、MestReNova v14.2.1 (Mestrelab Research) を用いてデータ処理した。Exponential (LB) と Gaussian (GB) を用いて、ゆるやかなブロードニングファクターを適用した。ただし、INT-qNMR と HifSA においては、窓関数を適用しなかった。以降、全ての測

定データに対して、512K データポイント数まで zero filling し、手動位相補正及び 5th order polynomial のベースライン補正を適用した。

B-4) INT-qNMR

約 10 mg の DFZ と約 1 mg の 1,4-BTMSB-*d*₄ を精密に量りとり、重アセトン 1.0 mL を加えて溶解させて、qNMR 測定に付した。1,4-BTMSB-*d*₄ のメチル基に対する DFZ の H-7 の積分比を用いて、下記の式から DFZ 含量を算出した。

$$Cont_{DFZ} = \frac{A_{DFZ}}{A_{IC}} \times \frac{H_{IC}}{H_{DFZ}} \times \frac{M_{DFZ}}{M_{IC}} \times \frac{m_{IC}}{m_S} \times P_{IC}$$

ここで、添字は分析種 (DFZ)、内標準 (IC) 及び試料。Cont : 含量, A : 積分した面積値, H : プロトン数, M : モル質量, m : 秤量値。

B-4) HifSA

NMR 反復計算ソフトウェアには、NMR Solutions Ltd 製の Cosmic Truth (CT) を使用した。約 40 mg の DFZ (RM002) を量りとり、重アセトン 1.0 mL を加えて溶解させ、qNMR 測定を行った。得られた qNMR スペクトルを MestReNova v14.2.1 を用いて JCAMP ファイルに変換した。この JCAMP ファイルと DFZ の mol ファイル ((2*RS*, 4*RS*)-DFZ と (2*RS*, 4*SR*)-DFZ の 2 種) を CT にアップロードし、計算スペクトルが実測スペクトルと一致するまで、化学シフト、スピンスピン結合定数及び半値幅を最適化した。

B-5) QM-qNMR

約 40 mg の DFZ と約 1 mg の DMSO₂ を精密に量りとり、重アセトン 1.0 mL を加えて溶解させ、qNMR 測定を行った。窓関数は以下の通り適用した : LB / GB 0.11 Hz / 0 Hz 及び台形関数 (高磁場 NMR) または LB / GB -0.1 Hz / 1.0 Hz (低磁場 NMR)。NMR スペクトルと 3 種の mol ファイル ((2*RS*, 4*RS*)-DFZ と (2*RS*, 4*SR*)-DFZ 及び DMSO₂) を CT にアップロードし、実測スペクトルと一致するまで反復計算を行った。この際、DFZ の化学シフト及びスピンスピン結合定数の値は HifSA で決定した値に固定したまま反復計算を行った。反復計算で得られた存在比 (モル比) を以下の式に代入し、DFZ の含量を求めた。

$$Cont_{DFZ} = \frac{Po_{(2RS,4RS)} + Po_{(2RS,4SR)}}{Po_{IC}} \times \frac{M_{DFZ}}{M_{IC}} \times \frac{m_{IC}}{m_S} \times P_{IC}$$

ここで、添字は DFZ, DMSO₂ (IC) 及び試料。

Po : モル比

B-6) キラル HPLC

約 5 mg の DFZ を量りとり、エタノールを加えて 50 mL に定容した。この液 10 μL を HPLC に注入し、(2*R*, 4*R*) 体, (2*R*, 4*S*) 体及び (2*S*, 4*R*) 体のピーク面積比から、以下の式を用いて、ジアステレオマー比 (DF) 及びエナンチオマー比 (EF_A 及び EF_B) を算出した。

$$DF = \frac{A_{(2R,4R)} + A_{(2S,4S)}}{A_{(2R,4R)} + A_{(2S,4S)} + A_{(2R,4S)} + A_{(2S,4R)}}$$

$$EF_A = \frac{A_{(2R,4R)}}{A_{(2R,4R)} + A_{(2S,4S)}}$$

$$EF_B = \frac{A_{(2R,4S)}}{A_{(2R,4S)} + A_{(2S,4R)}}$$

ここで、添字は DFZ の異性体。A : ピーク面積。

高速液体クロマトグラフは、(株) 島津製作所製 Prominence series (オートサンプラー : SIL-20AC, 送液ポンプ : LC20AD, カラムオーブン : CTO-20AC, フォトダイオードアレイ (PDA) 検出器 : SPD-M20A) を用いた。

キラル HPLC 条件

カラム : CHIRACEL OJ-H (4.6 mm×250 mm, 3μm, ダイセル社製), カラム温度 : 30°C, 流速 : 0.8 mL/min, 移動相 : ヘキサン/エタノール混液 (9 : 1)。

C. 結果及び考察

C-1) DFZ 試料の異性体比

本研究で取り扱う DFZ 試料の参照値を求めた。INT-qNMR から求めた DFZ 含量及びキラル HPLC から求めたジアステレオマー比 (DF), エナンチオマー比 (EF_A 及び EF_B) を表 1 にまとめた。いずれの試料も純度が 95% 以上と高純度な DFZ であった。また、エナンチオマー比は 0.50 であり、この結果は比旋光度が 0 という結果と矛盾しなかった。

C-2) DFZ の HifSA

¹H NMR スペクトル上で、(2*RS*, 4*RS*)-DFZ と

(2RS, 4SR)-DFZ を識別することは可能だが、正確な化学シフトとスピン-スピン結合定数は明らかになっていない。そこで、DFZ 試料のうち最も DFZ 含量が高かった RM002 に対して HifSA を実施し、DFZ の ^1H スピン情報を明らかにすることとした。NMR 装置は、現有機器の中で最もシム調整しやすかった室温プローブ付き JNM-ECZL600G を使用した。また、プロトンの半値幅を小さくすることでロングレンジのスピン-スピン結合定数 (LRC : Long-Rang Coupling) を見つけやすくするため、試料は回転させた状態で測定し、 ^{13}C デカップリングはオフにした。実際、H-3" においては、窓関数 LB / GB $-0.7 \text{ Hz} / 0.3 \text{ Hz}$ を適用して強制的にスペクトル分解能を上げたところ、H-3" が H-5" の他に H-7A 及び H-7B とスピン-スピン結合していることが分かった (図 2)。CT では、これらの LRC も含める形で反復計算を実施した。CT から得られた ^1H スピン情報を表 2 にまとめた。

C-3) ^1H スピン情報の保存性

測定磁場間における ^1H スピン情報の保存性について検討することとした。HifSA で明らかにした (2RS, 4RS)-DFZ と (2RS, 4SR)-DFZ の ^1H スピン情報を MestReNova に入力し、80 MHz, 400 MHz, 600 MHz, 800 MHz における参照 NMR スペクトルを作成した。このとき、(2RS, 4RS)-DFZ と (2RS, 4SR)-DFZ の存在比は、RM002 のジアステレオマー比に基づいて入力した (表 1)。別に RM002 を 80 MHz, 400 MHz, 600 MHz, 800 MHz の NMR 装置を用いて、実測スペクトルを得た。この実測 NMR スペクトルを参照 NMR スペクトルと照合したところ、すべての磁場で両スペクトルは一致した (図 3)。ただし、NMR では、装置ごとに磁場の均一性や安定性が異なるため、シグナルの半値幅を画一的に制御することはできない。そこで参照 NMR スペクトルのプロトン半値幅は全て 2 Hz に統一し、実測 NMR スペクトルに対しては 2 Hz のブロードニングファクター (LB / GB $2.0 \text{ Hz} / 0 \text{ Hz}$) を適用した。以上の結果から、 ^1H スピン情報に基づいて参照 NMR を作成し照合することで、物質の確認試験

に活用できる可能性が示唆された。

C-4) QM-qNMR の定量精度

^1H スピン情報を基準にした QM-qNMR から、DFZ 試料中の DFZ 含量を求めることにした。内部標準には、様々な重溶媒に溶解することが可能で、単純なシングレットを示す DMSO_2 を用いることとした。全ての試料に対して NMR 測定を 3 回行ったが、それぞれのスペクトルの線幅はシムの調整具合に依存するため、測定ごとにスペクトルの線幅は制御することが難しい。

QM-qNMR の繰り返し性を向上させるためには、測定ごとのスペクトルの線幅をある程度揃える必要があると判断し、窓関数を適用することとした。5 つの DFZ 試料の qNMR スペクトルを、HifSA の際にも用いた室温プローブ付き JNM-ECZL600G で取得した。自然線幅に必要な以上に手を加えたくなかったため、取り込み時間の 2 倍に相当する 9 秒で減衰する窓関数 (LB / GB $0.11 \text{ Hz} / 0 \text{ Hz}$) 及び台形関数を適用した。これらのスペクトルを CT にアップロードし、反復計算から (2RS, 4RS)-DFZ, (2RS, 4SR)-DFZ 及び DMSO_2 のモル比を算出し、DFZ 含量及びジアステレオマー比を求めた (表 3)。その結果、参照値に対する相対値は DFZ 含量で 100.2~100.9%、ジアステレオマー比で 98.3~101.3% であった。

C-5) QM-qNMR における窓関数の検討

RM002 を試料として、QM-qNMR における窓関数の影響を評価した。表 4 には、12 種類の窓関数を適用した際の定量結果を示している。LB 値を負の方向に増やすと GB の解像度が向上するが、解像度を強調しすぎると QM-qNMR の精度が低下する。この影響は、スペクトルに down-wiggles が現れることで明らかになる (図 4)。本研究では、0.3 から 1.0 Hz の GB を -0.1 Hz 以下の LB 値と組み合わせることで正確な結果が得られることを確認した。特に 1.0 Hz の GB が有効であったことが有益な情報である。仮に、シムをうまく調整できず、プロトンピークの割れが生じて、1.0 Hz の GB を適用することで、

ピーク割れをある程度隠し、線形フィッティング (QM-qNMR) を行うことが可能と考えられる。図 5 は、その一例であるが、この時の参照値に対する相対値は DFZ 含量で 99.3%、ジアステレオマー比で 98.5%であった。

C-6) 測定磁場間における QM-qNMR の定量精度

DFZ 試料のうち、RM002については、80 MHz、400 MHz、800 MHz での QM-qNMR も実施した。窓関数は以下の通り適用した：LB/GB 0.11 Hz / 0 Hz 及び台形関数 (400 MHz、600 MHz、800 MHz) または LB/GB -0.1 Hz / 1.0 Hz (80 MHz)。参照値に対する相対値は DFZ 含量で 100.4~102.0%、ジアステレオマー比で 100.1~100.9%であった (表 5)。全ての磁場で誤差 2%以内という良好な結果が得られた。

D. 結論

本研究では、NMRスペクトル上で2種のジアステレオマーが重なり合うDFZをモデル化合物として、HifSAによる (2RS, 4RS)-DFZ及び (2RS, 4SR)-DFZの¹Hスピン情報を抽出した。得られた¹Hスピン情報にしたがって、80 MHz、400 MHz、600 MHz、800 MHzにおけるDFZの参照NMRスペクトルを作成したところ、全ての共鳴周波数で、参照NMRスペクトルは実測スペクトルと一致した。

また、(2RS, 4RS)-DFZ及び (2RS, 4SR)-DFZの¹Hスピン情報を基準にして、線形フィッティングによるDFZの定量分析 (QM-qNMR) を実施したところ、NMR装置の磁場の大きさに依存することなく、検討した全てのNMR装置 (80~800 MHz) でDFZ含量、ジアステレオマー比ともに誤差 2%以内で分離定量することができた。

本研究は、¹Hスピン情報が当該物質の確認試験や定量試験のための標準品として機能することを示した。¹Hスピン情報はデジタル情報であるため、従来にはなかったデジタルリファレンススタンダード (dRS) として機能し、NMR装置があれば、既知の¹Hスピン情報を基準にして、世界中で統一した試験を瞬時に実施するこ

とが可能となる。

E. 参考文献

- 1) Achanta P.S, et al., Quantum mechanical NMR full spin analysis in pharmaceutical identity testing and quality control, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 192, 113601 (2021).
- 2) *USP Methods to Assist in Detecting Falsified Remdesivir*. <https://www.usp.org/covid-19/remdesivir> (accessed 2024-4-26)

F. 研究業績

F-1) 学会発表等

1. 西崎雄三: ¹Hスピン情報による化学物質のデジタルリファレンススタンダード(dRS)化: dRSを基準にしたqNMR. 第5回 日本定量NMR研究会 年会 (2023年12月1日)

F-2) 論文発表等

1. 西崎雄三, ¹Hスピン情報に基づいた化学物質のデジタルリファレンススタンダード, 食品衛生学雑誌, 65(2) J17-J21
2. Nishizaki Y, Sugimoto N, Miura T, Asakura K, Suematsu T, Korhonen, S.P, Lehtivarjo J, Niemitz M, Pauli G.F: Quantum Mechanical Quantitative Nuclear Magnetic Resonance Enables Digital Reference Standards at All Magnetic Fields and Enhances qNMR Sustainability, *Analytical Chemistry*, in press

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表 1

表 1 本研究で用いた DFZ 試料

Sample	DFZ content ^a	DF ^b	EF _A ^b	EF _B ^b
FA255	95.8%	0.412	0.500	0.501
FA256	95.4%	0.428	0.501	0.501
FA257	95.7%	0.411	0.501	0.501
RM001	99.0%	0.544	0.500	0.501
RM002	99.7%	0.448	0.500	0.501

^aINT-qNMR から求めた値。 ^bキラル HPLC から求めた値。

表 2

表 2 CT を用いて明らかにした DFZ の ¹H スピン情報

resonance	(2 <i>RS</i> , 4 <i>RS</i>)-DFZ				(2 <i>RS</i> , 4 <i>SR</i>)-DFZ				
	δ_{H} [ppm]	line width [Hz]	multiplicity ^b (<i>J</i> in Hz [coupled nucleus])	δ_{C} [ppm]	δ_{H} [ppm]	line width [Hz]	multiplicity ^b (<i>J</i> in Hz [coupled nucleus])	δ_{C} [ppm]	
2				108.1				108.1	
4	4.005	0.531	dqd (8.104 [H-5B], 6.106 [H-6], 5.658 [H-5A])	74.95	4.115	0.547	ddq (7.432 [H-5B], 6.048 [H-5A], 6.041 [H-6])	73.75	
5	A	4.091	0.432	ddq (-8.149 [H-5B], 5.658 [H-4], -0.093 [H-6])	71.99	3.966	0.417	dddq (-7.732 [H-5B], 6.048 [H-4], -0.309 [H-7A] ^{c,d} , -0.114 [H-6])	72.03
	B	3.332	0.420	ddq (-8.149 [H-5A], 8.104 [H-4], -0.139 [H-6])		3.167	0.417	ddq (-7.732 [H-5A], 7.432 [H-4], -0.101 [H-6])	
6	1.158	0.463	ddd (6.106 [H-4], -0.139 [H-5B], -0.093 [H-5A])	18.20	1.119	0.444	ddd (6.041 [H-4], -0.114 [H-5A], -0.101 [H-5B])	18.01	
7	A	4.769	0.446	ddd (-14.453 [H-7B], -0.368 [H-5] ^e , -0.333 [H-3] ^e)	55.09	4.773	0.474	dddd (-14.533 [H-7B], -0.360 [H-5] ^e , -0.340 [H-3] ^e , -0.309 [H-5A] ^{c,d})	55.00
	B	4.776	0.446	ddd (-14.453 [H-7A], -0.374 [H-3] ^e , -0.367 [H-5] ^e)		4.827	0.492	ddd (-14.533 [H-7A], -0.387 [H-5] ^e , -0.296 [H-3] ^e)	
1'				133.5				132.7	
2'				133.8				133.9	
3'	7.088	0.378	dd (2.514 [H-5'], 0.303 [H-6'])	121.4	7.094	0.382	dd (2.509 [H-5'], 0.306 [H-6'])	121.6	
4'				159.0				159.1	
5'	6.904	0.398	dd (8.695 [H-6'], 2.514 [H-3'])	117.0	6.921	0.400	dd (8.671 [H-6'], 2.509 [H-3'])	117.1	
6'	7.592	0.343	dd (8.695 [H-5'], 0.303 [H-3'])	130.8	7.591	0.359	dd (8.671 [H-5'], 0.306 [H-3'])	130.9	
9'				155.8				155.8	
10'	7.106	0.399	ddd (8.729 [H-11'], 3.004 [H-14'], 0.346 [H-13'])	122.0	7.105	0.392	ddd (8.733 [H-11'], 3.003 [H-14'], 0.341 [H-13'])	122.0	
11'	7.457	0.319	ddd (8.729 [H-10'], 2.671 [H-13'], 0.346 [H-14'])	131.0	7.456	0.342	ddd (8.733 [H-10'], 2.680 [H-13'], 0.341 [H-14'])	131.0	
12'				129.8				129.8	
13'	7.106	0.319	ddd (8.729 [H-14'], 2.671 [H-11'], 0.346 [H-10'])	131.0	7.456	0.342	ddd (8.733 [H-14'], 2.680 [H-11'], 0.341 [H-10'])	131.0	
14'	7.457	0.399	ddd (8.729 [H-13'], 3.004 [H-10'], 0.346 [H-11'])	122.0	7.105	0.392	ddd (8.733 [H-13'], 3.003 [H-10'], 0.341 [H-11'])	122.0	
3''	7.739	0.540	ddd (-0.374 [H-7B] ^f , -0.333 [H-7A] ^f , -0.308 [H-5] ^e)	151.6	7.766	0.551	ddd (-0.340 [H-7A] ^f , -0.308 [H-5] ^e , -0.296 [H-7B] ^f)	151.5	
5''	8.290	0.522	ddd (-0.368 [H-7A] ^f , -0.367 [H-7B] ^f , -0.308 [H-3] ^e)	145.7	8.316	0.516	ddd (-0.387 [H-7B] ^f , -0.360 [H-7A] ^f , -0.308 [H-3] ^e)	145.9	

表 3

表 3 600 MHz における QM-qNMR の定量精度

Sample	DFZ content	Acetone- <i>d</i> ₆	DF
FA255	100.9% ± 0.3%	99.8% ± 0.3%	
FA256	100.5% ± 0.1%	99.3% ± 0.4%	
FA257	100.6% ± 0.0%	98.3% ± 0.4%	
RM001	100.3% ± 0.2%	100.0% ± 0.2%	
RM002	100.2% ± 0.4%	101.3% ± 0.3%	

参照値 (表 1) に対する相対値を示した。

表 4

表 4 12 種類の LB / GB 窓関数を適用した際の QM-qNMR の定量精度

LB/GB [Hz]	DFZ content	DF
0/0.3	99.8%	100.8%
-0.1/0.3	100.4%	100.6%
-0.3/0.3	83.6%	100.9%
0/0.5	100.4%	100.5%
-0.1/0.5	100.6%	100.7%
-0.3/0.5	90.7%	100.4%
-0.5/0.5	77.7%	100.4%
0/1.0	101.2%	100.3%
-0.1/1.0	100.4%	100.1%
-0.3/1.0	95.8%	99.9%
-0.5/1.0	89.9%	100.1%
-1.0/1.0	77.9%	99.3%

参照値 (表 1) に対する相対値を示した。

表 5

表 5 80~800MHz における QM-qNMR の定量精度

¹ H freq.	DFZ content	DF
80 MHz	100.5% ± 0.1%	100.9% ± 0.5%
400 MHz	101.7% ± 0.5%	100.3% ± 0.0%
600 MHz	100.4% ± 0.1%	100.9% ± 0.3%
800 MHz	102.0% ± 0.2%	100.1% ± 0.1%

600 MHz は HifSA で用いた NMR 装置とは別の装置を用いた (ECZ600R/S1)。

図 1

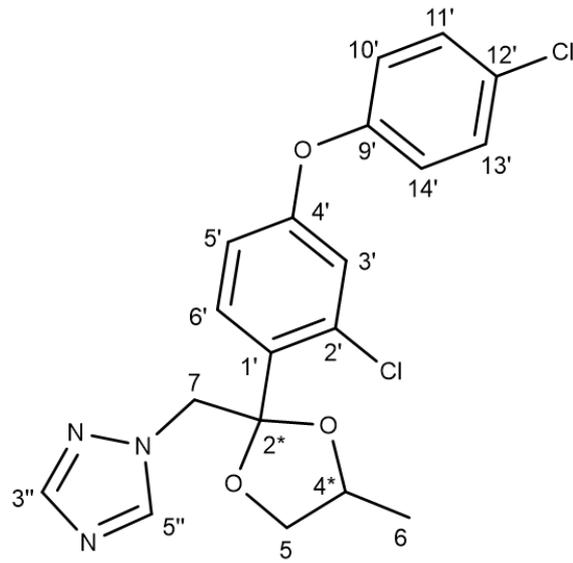


図 1 ジフェノコナゾールの化学構造

* はキラル中心。

図 2

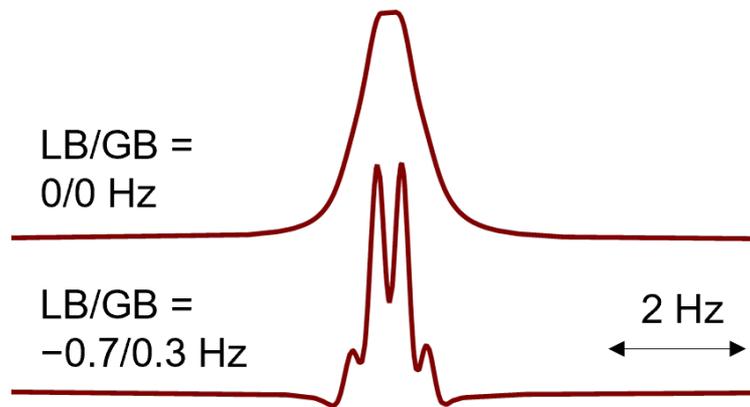


図 2 窓関数を適用して強制的にスペクトル分解能を向上させた (2RS, 4SR)-DFZ の H-3'' (600 MHz)

図 3

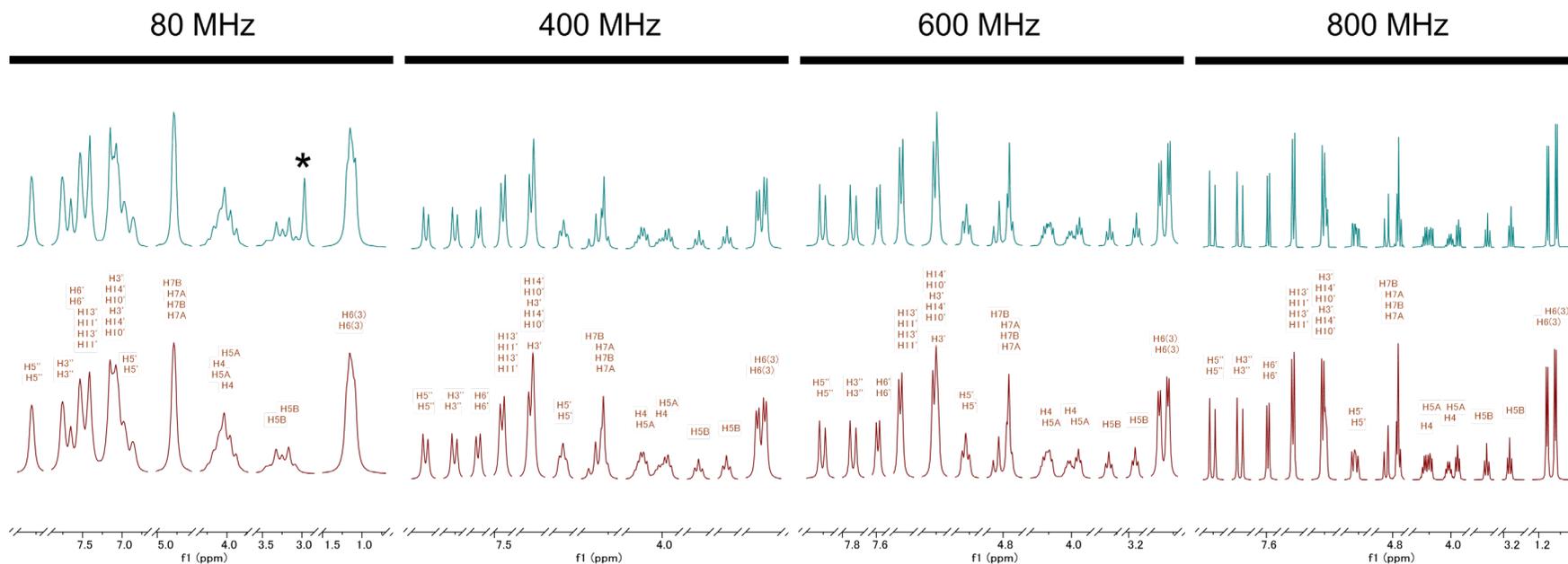


図 3 80～800 MHz における DFZ の参照 NMR スペクトルと実測スペクトルの比較
 参照 NMR スペクトルは (2*RS*, 4*RS*)-DFZ と (2*RS*, 4*SR*)-DFZ の ¹H スピン情報にしたがって作成した。

図 4

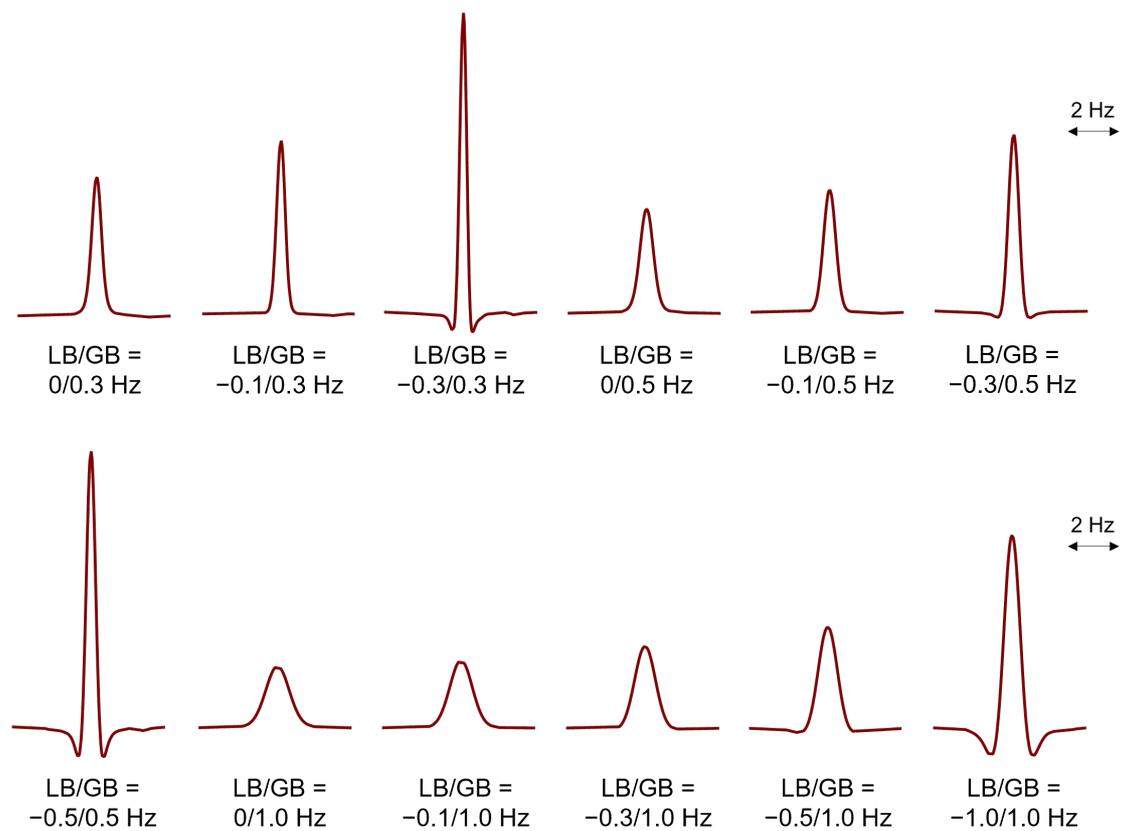


図 4 LB/GB 窓関数が与えるスペクトルへの影響

DMSO₂のプロトンを示した。

図 5

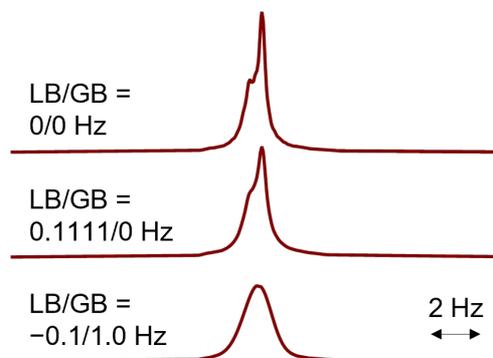


図 5 LB / GB 窓関数によるピーク割れした NMR スペクトルの補修

試料は、FA257 と DMSO_2 を重アセトンに溶解させたもの。スペクトル中のプロトンは DMSO_2 。